



# **Socialisering och träning av kaniner i medicinsk forskning**

---

*Socialization and training of rabbits in medical research*

Louise Ersbring

Självständigt arbete • 30 hp  
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Veterinärprogrammet  
Uppsala 2021





# Socialisering och träning av kaniner i medicinsk forskning

*Socialization and training of rabbits in medical research*

Louise Ersbring

**Handledare:** Patricia Hedenqvist, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Bitr. handledare:** Elin Manell, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Examinator:** Ingrid Soto Flores, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** A2E

**Kurstitel:** Examensarbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0869

**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet

**Kursansvarig inst.:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2021

**Omslagsbild:** Louise Ersbring

**Nyckelord:** Kanin, hantering, träning, socialisering, fasthållning, rädsla, stress

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Enheten för komparativ medicin och fysiologi

## Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

## Sammanfattning

Kaninen används till en rad olika områden inom medicinsk forskning. Människans närvaro kan utgöra en permanent källa till stress för försökskaninen, vilket kan ha negativ inverkan på djurvälstånd och forskningsresultat via dess effekt på diverse fysiologiska och kemiska parametrar. Rädslan för människor har bevisats kunna reduceras genom att regelbundet exponera kaninen för hantering.

I dagsläget saknas standardiserade riktlinjer för hur försökskaninen ska invänjas vid hantering av människor. Studien ämnade att granska och utvärdera verkställandet av ett träningsprogram för kaniner som implementerats på Karolinska Institutet i Stockholm med lovande resultat, i syfte att identifiera eventuella brister med programmet och att belysa områden som kan vara av betydelse för vidare forskning. Det långsiktiga målet är att uppnå en standardiserad metod för socialisering och träning av kaniner inom medicinsk forskning.

Sex kaninhanor av rasen New Zealand White observerades över 12 på varandra följande dagar. Det fanns ingen kontrollgrupp. Programmets utförande dokumenterades genom intervju av personal och observation. Kaninernas rädsla för människor utvärderades vid två separata tillfällen genom tillämpning av kvantifierad beteendeanalys, flertalet human approach tester och mätning av andningsfrekvens. Data analyserades genom parat t-test och deskriptiv analys.

Beteendeanalysen demonstrerade en statistiskt signifikant ökning av beteenden som förknippas med oräddhet. Under approach testet ökade antalet kontakter med människans hand medan tiden till första kontakt minskade. Durationen som kaninen valt att befinna sig i människans närhet hade ökat i slutet av studien. Ingen signifikant påverkan fanns på kaninens andningsfrekvens.

Resultaten tyder på att hanteringen under träningsprogrammet leder till reducerad rädsla mot människor. Mer forskning krävs, men denna studie utgör ett lovande första steg för utvecklingen av en standardiserad, effektiv metod för socialisering av kaniner i medicinsk forskning.

*Nyckelord:*

Kanin, hantering, träning, socialisering, fasthållning, rädsla, stress

## Abstract

The rabbit is used for a variety of medical research fields. The human may constitute a permanent source of stress for the laboratory rabbit, which may have a negative impact on animal welfare and research results through its effect on various physiological and chemical parameters. The fear of humans can be reduced by regularly exposing the rabbit to handling.

Currently there are no standardized guidelines for how the laboratory rabbit should be habituated to human handling. The study aimed to examine and evaluate the execution of a training program for rabbits that has been implemented at the Karolinska Institute in Stockholm with promising results, with the purpose to identify potential flaws of the program and to display areas of importance for further research. The long-term goal is to achieve a standardized method of socialization and training of rabbits in medical research.

Six male New Zealand White rabbits were observed over 12 consecutive days. There was no control group. The execution of the program was documented through interview of personnel and observation. The rabbits' fear of humans was evaluated on two separate occasions through the application of quantified behavioral analysis, multiple human approach tests and measurements of respiratory rate. The data was analyzed by paired t-test and descriptive analysis.

The behavioral analysis demonstrated a statistically significant increase of behaviors consistent with fearlessness. During the approach test, the number of contacts with the human hand increased while the time until first contact decreased. The duration spent in the human's near vicinity had increased by the end of the study. No significant effect was found on the rabbit's respiratory rate.

The results indicate that the handling during the training program leads to reduced fear of humans. More research is required, but this study constitutes a promising first step for the development of a standardized, effective method of socialization of rabbits in medical research.

*Key words:* Rabbit, handling, training, socialization, restraint, fear, stress

# Innehåll

<b>1. Inledning.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Litteraturöversikt .....</b>	<b>10</b>
2.1. Hur påverkas kaninen av rädsla och stress? .....	10
2.1.1. Beteende.....	10
2.1.2. Fysiologiska och kemiska parametrar .....	11
2.2. Utvärdering av rädsla och stress hos kaniner .....	11
2.2.1. Open field test .....	11
2.2.2. Novel object test .....	11
2.2.3. Approach test .....	12
2.2.4. Tonic immobility test .....	12
2.3. Hantering av kaniner.....	13
2.3.1. Metoder för lyft och fasthållning .....	14
2.3.2. Hantering av kaniner före avvänjning.....	16
2.3.3. Hantering av kaniner efter avvänjning.....	17
<b>3. Material och metod .....</b>	<b>19</b>
3.1. Kaninerna.....	19
3.2. Träningsprogrammet.....	19
3.3. Studiedesign .....	19
3.3.1. Dokumentation av träningsprogrammet .....	19
3.3.2. Andningsfrekvens .....	20
3.3.3. Beteendeanalys .....	20
3.3.4. Approach test .....	21
3.4. Databearbetning .....	21
<b>4. Resultat.....</b>	<b>22</b>
4.1. Dokumentation av träningsprogrammet.....	22
4.1.1. Acklimatisering .....	22
4.1.2. Socialisering .....	22
4.1.3. Fasthållning .....	23
4.2. Beteendeanalys .....	24

4.3.	Approach test.....	25
4.3.1.	Lokalisation.....	27
4.4.	Andningsfrekvens .....	28
<b>5.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>29</b>
5.1.	Utformning .....	29
5.2.	Effekter.....	31
5.2.1.	Effekter direkt efter socialisering .....	31
5.2.2.	Effekter efter träningsprogrammets fullföljande.....	31
5.2.3.	Förväntade effekter .....	31
5.3.	Faktorer som kan påverka resultatet .....	32
5.3.1.	Belöning.....	32
5.3.2.	Lukt och ljud .....	32
5.3.3.	Kaninernas bakgrund .....	33
5.3.4.	Inhysning .....	33
5.3.5.	Val av test.....	33
5.4.	Felkällor .....	34
5.5.	Vidare forskningsområden .....	34
5.6.	Slutsats .....	35
	<b>Referenser.....</b>	<b>36</b>
	<b>Populärvetenskaplig sammanfattning .....</b>	<b>40</b>
	Bakgrund.....	40
	Resultat och diskussion .....	41



# 1. Inledning

Kaninen (*Oryctolagus cuniculus*) används inom en rad olika områden av medicinsk forskning, exempelvis för framställning av polyklonala antikroppar, sjukdomsstudier, reproduktionsforskning och toxicitetstester (Lidfors *et al.* 2007). Kaninen är ett bytesdjur (Humphreys & Ruxton 2018) och för dem kan människan utgöra en permanent källa till stress (Pongrácz & Altbäcker 1999), vilket i sin tur kan påverka läkemedelssvar och djurets fysiologiska, neurokemiska och psykiska tillstånd (Stuart & Robinson 2015). Implementering av rutiner för hantering av djuren inom forskning kan användas som en metod för att reducera stress, förbättra djurvälstånd (Csatádi *et al.* 2005), öka medgörlighet och minska skaderisk (Swennes *et al.* 2011).

Examensarbetet inriktas på att studera utförandet av ett aldrig tidigare dokumenterat socialiserings- och träningsprogram för kaniner som nyttjas i medicinsk forskning på Karolinska Institutet. Programmet har av personalen upplevts göra kaniner lättare att hantera och mindre stressade vid hantering. Syftet är att dokumentera utförandet, undersöka effekten på kaninernas andningsfrekvens och beteende, samt att redogöra för vetenskapliga belägg kring socialisering och träning av kaniner. En viktig del i arbetet är också att identifiera eventuella brister med programmet och att belysa områden som kan vara av betydelse för vidare forskning.

Studien utgör inledningen av ett mer omfattande forskningsarbete där målet är att validera en standardiserad, effektiv metod för socialisering och träning av kaniner inom medicinsk forskning. Ett program av denna art skulle kunna bidra till minimerad stress och därmed bli av stor vikt för djurskydd samt även ha betydelse ur en vetenskaplig synvinkel då stress kan inverka på diverse forskningsparametrar.

## 2. Litteraturöversikt

### 2.1. Hur påverkas kaninen av rädsla och stress?

#### 2.1.1. Beteende

Kaninen är ett nattaktivt bytesdjur (Lidfors *et al.* 2007). Ifall en hotfull situation presenterar sig så kan stressen manifesteras i form av morfologiska, fysiologiska, kemiska och beteendemässiga anpassningar (Humphreys & Ruxton 2018). Djuret kan välja att uppsöka skydd, genomföra flyktförsök, uppvisa aggression eller anta ett tillstånd av immobilitet för att undvika upptäckt (McBride 2017). Genom att kaninen utför stampningar med bakbenen kan andra kaniner varnas om en farlig situation och ta till flykt under jorden. Ifall kaninen fångas av ett rovdjur kan den vokalisera i form av ett nödrop (Lidfors *et al.* 2007).

Reaktionen till följd av stress kan påverkas av miljörelaterade faktorer (Verga *et al.* 2007) som exempelvis typ av inhysningssystem (Trocino *et al.* 2014), foder, tillgång till gnagmaterial (Prebble *et al.* 2015), social berikning (Chu *et al.* 2004; Trocino *et al.* 2014), temperatur, ljud och ljus (McBride 2017). Det rekommenderas att kaniner hålls i en temperatur på 18°C (15-22°C) och ljusstyrka om 200 lux (Lidfors *et al.* 2007). Brist på social berikning kan leda till kronisk stress som i sin tur resulterar i ett mer begränsat beteenduttryck (Noller *et al.* 2013). Långvarig eller upprepad stress kan leda till stereotypier såsom vävning, hårplockning och gnagande på galler (Gunn & Morton 1995) eller golv. Andra abnorma beteenden är att rycka i objekt och gräva på fasta ytor (Chu *et al.* 2004). Frekvensen av uppvisade stereotypier hos kaniner varierar över dygnet och är som högst under natten (Gunn & Morton 1995).

En *tonisk immobilitetsreaktion* kan uppstå efter manuell fasthållning som en försvarsmekanism mot rovdjur och är förknippad med kraftig rädsla (Ewell *et al.* 1981). Djuret antar då en orörlig kroppshållning och minimerar mottagligheten för externa stimuli (Humphreys & Ruxton 2018). I motsats till en flyktrespons, så sjunker hjärtfrekvensen istället för höjs under en immobilitetsreaktion (Giannico 2014). Vissa djurägare misstar denna stilla kroppsställning för lugn snarare än rädsla (Bradbury & Dickens 2016). Vilda kaniner har visat sig kvarbli i tillståndet under en signifikant längre tid än domesticerade (Whishaw *et al.* 1978), vilket kan antas bero på att de vilda djuren är mer rädda för människor än de domesticerade (Ewell *et al.* 1981).

### 2.1.2. Fysiologiska och kemiska parametrar

Vid beteendestudier bör alltid kvantifierbara stressrelaterade effekter tas i beaktning (Pekow 2005) såsom ökad hjärt- och andningsfrekvens (Pekow 2005; Baias *et al.* 2012), stress-inducerad hypertermi (Olivier *et al.* 2003), ökad urinkortisol och ökat fekalt kortikosteron (Baias *et al.* 2012), samt påverkade sekundära stressmarkörer som totalprotein, glukos och laktat (Fazio *et al.* 2015). Frisättning av stresshormoner kan också påverka läkemedelssvar och neurokemiska processer i djuret (Stuart & Robinson 2015).

## 2.2. Utvärdering av rädsla och stress hos kaniner

För att utvärdera kaniners beteendemönster har det i olika studier använts filminspelningar över perioder om 24 timmar (Trocino *et al.* 2014), och 72 timmar (Verwer *et al.* 2009a) och beteenden noterats enligt bestämda etogram (Verwer *et al.* 2009a; Trocino *et al.* 2014). Open-field test och novel object test är två metoder som traditionellt används vid utvärdering av djurs rädsla (Olivas & Villagrà 2012). Det finns även approach test och tonic immobility test för att granska kaniners rädsla gentemot människor (Verwer *et al.* 2009a).

Vissa karakteristika hos en individ kan förbli relativt konstanta över tid och oförändrade i en beteendestudie. Detta beskrivs i en studie kunna bero på skillnader i personlighet. Genom beteendetester genomförda på 61 kaniner av olika kön, raser och åldrar kunde tre olika personlighetsdimensioner identifieras; ”mod”, ”utforskande” och ”ångest” (Andersson *et al.* 2014). Andra faktorer som kan ha inverkan på individnivå är kön (Papaioannou *et al.* 2002) och selektering i aveln (Price 1984).

### 2.2.1. Open field test

Open field test är den vanligaste metoden för att utvärdera rädsla hos kaniner. En kanin placeras ensam på en främmande yta (”open field”) och uppvisade beteenden antecknas. Nivån av rädsla bedöms vara lägre ifall kaninen snabbare utforskar hela ytan, rör sig mer på den eller genomför avslappnade beteenden som putsning. Det finns dock evidens för att testet skulle kunna vara en ospecifik indikator för rädsla. Ökad rörelse över den främmande ytan kan drivas av explorativ motivation och uppvisade flyktbeteenden kan bero på att kaninen är socialt motiverad och söker efter artfränder (Buijs & Tuytens 2015).

### 2.2.2. Novel object test

Novel object test går ut på att ett främmande objekt presenteras för kaninen. Ifall djuret i hög grad utforskar objektet kan nivån av rädsla bedömas vara låg, medan

ringa interaktion med objektet kännetecknar högre grad av rädsla (Olivas & Villagr  2012). Därefter g r det att registrera duration och frekvens f r uppvisade beteenden i samband med objektets närvaro under en specificerad tidsperiod (Verwer *et al.* 2009a) och tiden det tar att närma sig objektet (Buijs & Tuytens 2015). I en studie m ttes enbart tid till att närma sig objektet och då sågs inga signifikanta tecken på stress trots att f rs kskaninerna påvisat stress i andra tester. Eftersom forskningskaniner sällan utsätts för nya objekt i sin miljö föreslogs diskrepansen bero på att explorativ motivation kan överstiga potentiell neofobi (Krall *et al.* 2019). I en annan studie sågs ingen stress-inducerad hypertermi hos de prövade kaninerna i samband med testet, vilket föreslogs kunna peka på att presentation av ett främmande objekt ej fungerar som en stressfull händelse f r kaniner (Olivas & Villagr  2012).

### 2.2.3. Approach test

Approach test, även kallat "human approach test", innefattar att kaninens beteende utvärderas efter att en människa närmat sig buren. Detta test nyttjas i flertalet studier som ämnar att utreda effekten av hantering på kaniners rädsla för människor (Pongr cz & Altbäcker 1999; Bilk  & Altbäcker 2000; Pongr cz *et al.* 2001; Pongr cz & Altbäcker 2003; Csat di *et al.* 2005, 2007; D cs *et al.* 2009; Verwer *et al.* 2009a). Ett beskrivet utförande går ut på att kaninen först placeras i en separat bur och ges fem minuter att akklimatisera sig. Därefter ställer sig människan inom armlängds avstånd och placerar en hand på burv ggen. Under 5 minuters tid m ts därefter tiden till första kontakt och antal kontakter. Kontakt definieras som att kaninens nos rör handen (Pongr cz & Altbäcker 1999, 2003; Bilk  & Altbäcker 2000; Pongr cz *et al.* 2001; Csat di *et al.* 2005, 2007; D cs *et al.* 2009).

Det existerar en likartad metod kallad "human intruder test" där dörren till kaninens bur öppnas, armen sträcks in till armbågen och kaninernas omedelbara reaktion noteras enligt ett etogram (Krall *et al.* 2019). En annan dokumenterad metod beskriver hur kaniner testas genom att en hand sträcks in till gruppf llan, och antal gånger då kaninen kommer inom 5 cm från handen registreras (Verwer *et al.* 2009a). Även ohanterade djur som bed mns vara rädda för människor kan beröra handen, men oftast sker det enbart en gång innan de avlägsnar sig (Csat di *et al.* 2005). I en studie tog ohanterade kaniner snabbare första kontakt  n hanterade, vilket bedömdes kunna bero på att de ohanterade s g människan som något mer nytt och spännande (Csat di *et al.* 2007).

### 2.2.4. Tonic immobility test

Testet har använts för att utvärdera kaniners rädsla gentemot människor (Verwer *et al.* 2009a; Zucca *et al.* 2012; Trocino *et al.* 2014). Tonisk immobilitet framkallas genom att kaninen placeras i ryggläge i någons famn eller en orörlig V-formad

vagga. Antal försök för att uppnå tonisk immobilitet och duration för immobilitetsreaktionen noteras (Ewell *et al.* 1981; Verwer *et al.* 2009a; Zucca *et al.* 2012; Trocino *et al.* 2014). En studie noterade även tiden det tog innan kaninerna försattes i immobilitet (Verwer *et al.* 2009a). Flera studier har begränsat antalet försök till tre stycken (Zucca *et al.* 2012; Trocino *et al.* 2014) och durationen till maximalt 180 sekunder eller fem minuter (Verwer *et al.* 2009a).

Föregås testet av en situation som framkallar obehag så ökar sannolikheten att immobilitet uppnås och durationen ökar (Gallup 1974). Både hantering och upprepning av testet kan bidra till minskad respons (Nash & Gallup 1976). Responsen kan också modifieras av selektiv avel (Gallup 1974). I en studie genomfördes testet 1-2 dygn efter andra tester, med angiven motivering att testet bedömdes ha stor påverkan på djuret (Verwer *et al.* 2009a). I en annan studie utsattes varje kanin enbart en gång för ett test (Trocino *et al.* 2014).

En studie visade att andelen sensitiva kaniner var lägre bland de som hölls i grupp i hage, jämfört med de hållna i par i bur, oavsett ytstorlek och antal kaniner i hagen. I samma studie demonstrerades också immobilitetens duration vara signifikant lägre för kaniner testade vid 72 dygns ålder än kaniner testade vid 55 dygns ålder. Kaninerna hade ej tidigare utsatts för testet (Trocino *et al.* 2014).

### 2.3. Hantering av kaniner

Kaniner är bytesdjur och kommer därmed att undvika hantering av människor (Mullan & Main 2007). Sannolikt utgör människan en permanent källa till stress för försökskaniner, vilket potentiellt påverkar hormonella, neurala och beteendemässiga svar i studier (Pongrácz & Altbäcker 1999). Det är av hög vikt att utveckla metoder för att reducera rädslan gentemot människor (Verga *et al.* 2007), vilket kräver någon form av habituering av kaninen till behandling av människor (Mullan & Main 2007). Hanteringsprogram kan användas som en metod för att reducera stress och förbättra kaniners välfärd (Csatádi *et al.* 2005). Habituering, positiv betingning eller imitativt lärande kan åstadkomma förvärvad tamhet. Processen kan påskyndas ifall den genomförs under en känslig period för socialisering tidigt i livet. Det går också att selektera för tamhet och foglighet, som i sin tur faciliterar hanteringen av djur (Price 1984).

Utöver effekter på kaniners rädsla för människor så finns evidens för att hantering har effekt på fysiologiska parametrar, som exempelvis minskad variation i kroppstemperatur under blodprovtagning (Verwer *et al.* 2009b). I en studie var mortaliteten lägre och vikten högre hos hanterade kaniner jämfört med kontroller. Kaninerna hanterades från 6 till 30 veckors ålder. Effekten av hantering ökade med tiden och var därför tydligare hos äldre djur (Jeziński & Konecka 1996). I en studie sågs ingen signifikant skillnad i vikt hos hanterade kaniner vid 4 veckors ålder (Csatádi

*et al.* 2005), medan det i en annan var signifikant skillnad först vid 16 veckors ålder (Verwer *et al.* 2009b).

Inhysningssystem har visat sig påverka kaniners reaktion på människor och nya miljöer. En studie visade att kaniner vid gruppållning i hage var modigare gentemot människor jämfört med de som inhystes genom parållning i bur. Detta visades genom tonic immobility test. Däremot rådde det motsatta när kaninernas rädsla i ny miljö testades via open field test. Samma studie visade att kaniner vid gruppållning i box visade ett bredare spektrum när det kom till beteende (Trocino *et al.* 2014).

### 2.3.1. Metoder för lyft och fastållning

Det är viktigt att fixera en kanin ordentligt vid förflyttning eller ingrepp för att förebygga skador. Kaninen har kraftigt byggda bakben och en väl tilltagen spark kan leda till rivskador på personal eller frakturer i kaninens rygg (Donovan & Brown 2006). Enligt en brittisk enkätstudie är förflyttning den vanligaste anledningen till att kaniner hanteras av djurvårdspersonal, laboratoriepersonal och djurägare (sällskapskaniner). 38,9 % av respondenterna hade arbetat med kaniner, men enbart 3,1 % hade arbetat inom forskningssektorn. Studien ämnade att undersöka kaninållares instållning till fem vanliga metoder för att båra och hantera kaniner. Metoderna demonstrerades med fotografier (Oxley *et al.* 2019), som kan illustreras med liknande exempel nedan (figur 1–5).



*Figur 1. Med kaninens huvud under arm.*



*Figur 2. Mot bröst med en hand över rygg.*



*Figur 3. Under kaninens bröstkorg.*



*Figur 4. Med kaninen på rygg.*



*Figur 5. I nackskinnet.*

Den mest använda metoden var stöd med kaninens huvud under arm (86,2 %, fig 1), åtföljt av metoderna illustrerade i fig 2, 3 och 4 (53,7–63,6 %). Den minst använda metoden var grepp över nackskinnet (15,3 %, fig 5) med den vanligaste angivna motiveringen att den ansågs olämplig för arten. Studien beskriver att mer forskning krävs för att fastställa huruvida grepp om nackskinnet hämmar djurväl-färden eller ej (Oxley *et al.* 2019).

Konventionell fasthållning av råttor via grepp om nackskinnet inför intraperitoneal injektion har demonstrerats kunna signifikant öka stresshormoner i jämförelse med en modifierad metod med minimal fixering. Modifieringen hade samtidigt ingen signifikant inverkan på läkemedlets biotillgänglighet (Stuart & Robinson 2015).

Litteraturen beskriver att försökskaniner lämpligen förflyttas över korta distanser genom ett fast grepp om nackskinnet med en hand, stöttning av bakpartiet med den andra och slutgiltig fixering av huvudet under samma arm. Över längre distanser rekommenderas transport via plastbehållare. Immobilitetsreaktion genom att vända kaninen på rygg föreslås som en metod för att hålla försökskaninen fixerad under hantering. Det finns också anordningar för immobilisering innefattande exempelvis bur, plexiglaslåda eller handduk. (Donovan & Brown 2006; Pekow 2012).

### 2.3.2. Hantering av kaniner före avvänjning

Hantering av kaniner innan avvänjning har bevisats reducera rädsla gentemot människor i en rad olika studier (Anderson *et al.* 1972; Kersten *et al.* 1989; Jezierski & Konecka 1996; Pongrácz & Altbäcker 1999, 2003; Pongrácz *et al.* 2001; Csatádi *et al.* 2005, 2007; Pritt *et al.* 2008; Dúcs *et al.* 2009; Verwer *et al.* 2009a; b; Zucca *et al.* 2012). Första veckan är en känslig period i kaninens liv då effekten av hantering förstärks (Bilkó & Altbäcker 2000) ifall den utförs inom en period av 15 minuter före och 30 minuter efter di (Pongrácz & Altbäcker 1999). Detta beror sannolikt på dess anknytning till känslan av upphetsning som kaninungarna känner i samband med di (Pongrácz & Altbäcker 2003).

Den ökade effekten av hantering under kaninens första levnadsvecka bedöms ej bero på sexuell prägling (Bilkó & Altbäcker 2000) eftersom det i vuxen ålder gått att se förstärkt sexuellt beteende hos honor som hanterats innan avvänjning (Anderson *et al.* 1972). Istället finns evidens att utvecklingen av kaninungens luktsinne är av högre signifikans, eftersom det har gått att se effekt trots att handen enbart hållits i ungarnas närhet under 1-2 minuter utan att beröra dem (Dúcs *et al.* 2009; Zucca *et al.* 2012).

Ett vanligt tillvägagångssätt är att kaninungarna kollektivt avlägsnas ur boet med bara händer, kort efter digivning, från och med första eller andra levnadsdagen, vägs och åter placeras i boet. Det har rapporterats ta maximalt cirka 3 till 5 minuter per kull. Processen upprepas dagligen upp till 8:e levnadsdagen (Pongrácz & Altbäcker 1999, 2003; Bilkó & Altbäcker 2000; Pongrácz *et al.* 2001; Csatádi *et al.* 2005, 2007; Verwer *et al.* 2009a). Effekten av hantering har bevisats kunna kvarstå upp till 6-8 månaders ålder (Pongrácz & Altbäcker 1999). Metoden är lika effektiv på vilda som domesticerade kaniner (Bilkó & Altbäcker 2000). Det finns även metoder beskrivna som ej involverar beröring (Dúcs *et al.* 2009; Zucca *et al.* 2012) eller som innefattar kontaktperioder så korta som 5 sekunder per unge (Csatádi *et al.*



*al.* 2005). En annan studie nyttjade en metod som innefattade 10 minuters daglig gruppvis hantering från 10 dygns till 10 veckors ålder. Den genomfördes i en persons knä medan den pratade vänligt med djuren. Därefter skedde hanteringen veckovis till och med 30 veckors ålder (Jezierski & Konecka 1996). Samtliga studier, oavsett hanteringsmetod, har lett till minskad rädsla för människor.

En studie där kaninungarna hade hanterats två gånger dagligen visade varierande och oväntade resultat på open field test vid 98 dygns ålder. Bland annat hade kaninungar som hanterades mellan dag 11-20 bedömts som modigare än de som hanterats dygn 1-10. Det föreslogs kunna bero på kaninungarnas utveckling eller att moderdjurens bakgrund hade haft inverkan på avkommorna, då flera hade varit med i en tidigare hanteringsstudie (Kersten *et al.* 1989). Kaniners förmåga att anta en betingad reflex kan bero på genetiskt arv eller uppväxt (Kehoe *et al.* 1995).

### 2.3.3. Hantering av kaniner efter avvänjning

I dagsläget finns inget bevisat effektivt hanteringsprotokoll för att reducera vuxna kaniners rädsla gentemot människor. Implementering av ett sådant program skulle kunna vara viktig för djurvälståndet (Podberscek *et al.* 1991), öka medgörlighet och minska skaderisk. Hantering av vuxna kaniner kan tänkas kräva ökad frekvens och/eller duration jämfört med hantering av neonatala, men kan potentiellt uppnå likartad framgång (Swennes *et al.* 2011).

I studien av Podberscek *et al.* (1991) uppvisade 14 kaniner, bestående av honor och kastrerade hanar i 6–30 månaders ålder, en signifikant reduktion av rädsla mot människor efter hantering tre gånger dagligen över fem dygn inom en veckas tid. För att få en permanent reduktion kan längre perioder av mänsklig hantering krävas. Protokollet gick ut på att en bekant person först stod 0,5 meters bort från buren eller fällan, därefter öppnade dörren till den och slutligen fångade kaninen. I varje steg observerades och registrerades kaninens beteende.

En annan studie av Swennes *et al.* (2011) bestod av 21 stycken fyra månader gamla New Zealand White honor, varav 11 stycken hanterades måndag till fredag under tre veckor i följd. Kaninen avlägsnades från buren via grepp över nackskinnet och stöd om bakpartiet och fördes till ett annat rum där den placerades på en halkfri vagn. Under två minuters tid så smektes kaninen mellan ögonen och palperades lätt från mun, nos och ansikte, till framben, rygg, bröstorg och bakben. Efter att ha klappats mellan ögonen ännu en gång så förflyttades kaninen via grepp om nackskinnet till en plastlåda. Kaninen pressades mot sidan av lådan och via tryck med fingrar över öronartär så simulerades blodprovstagning. Slutligen förflyttades kaninen åter till buren. Sessionen avslutades med att en bit äpple, morot eller sallad placerades i buren. Hela hanteringsprotokollet tog cirka 4 minuter. Samtliga hanterade kaniner visade reducerad rädsla mot människor i slutet av studien.

Öhrman (2017) studerade 12 stycken fyra månader gamla New Zealand White honor, varav 6 stycken hanterades. En testperson satt i boxen under 30 minuter och erbjöd två skålar med torkad respektive färsk frukt. Allteftersom försöket fortskred så placerades skålarna närmre testpersonen, tills kaninerna kunde äta ut dennes hand. När kaninerna kom närmare så påbörjades försök att klappa kaninerna och att lyfta dem genom grepp i nackskinnet och under bakdelen. Kaninernas hanterbarhet graderades under dygn 8, 10, 12 och resultaten pekade på att de hanterade kaninerna blivit mer bekväma med människor. Efter hanteringen så klickertränades kaninerna med framgång.

Belöning och klassisk betingning har visat sig vara verksamt i en annan studie utförd på 12 stycken New Zealand White honor i 6–10 månaders ålder. Kaninerna belönades av en testperson och aldrig den andra. Till följd var kaninerna signifikant mer samarbetsvilliga med den som belönade. En slutsats kunde dras att kaniner, likt andra djur, kan skilja människor åt och särbehandla dem baserat på sina erfarenheter. Detta sker via klassisk betingning, vilket också kan hända omedvetet i forskningsmiljön (Davis & Gibson 2000).

### 3. Material och metod

#### 3.1. Kaninerna

I studien användes 6 kaninhanar av rasen New Zealand White. De ankom till Karolinska Institutet från Lidköpings kaninfarm (2020-10-22) vid cirka 4 månaders ålder och vägde då 2,2–3,1 kg. Det var ej känt hur kaninerna hade hanterats eller hållits innan de ankom till Karolinska Institutet.

Under studien förvarades de enskilt i konventionella gallerburar (Scanbur EC2) som uppfyller Jordbruksverkets utrymmeskrav (golvyta 4300 cm<sup>2</sup>) inomhus. Burarna var försedda med sitthylla, halm och vattenflaska med nippel. Kaninerna utfodrades med pellets (Rabbfor, Lantmännen) en gång dagligen med en mängd anpassad för deras åldersgrupp och ras. Lucernhack erbjöds en gång dagligen. Det sågs till att bitpinnar alltid fanns tillgängliga i buren. Temperaturen noterades vid ett tillfälle vara 21° C. Kaninerna hade ej tillgång till dagsljus.

Samtliga kaniner ingick i träningsprogrammet i förberedelse för hantering och oral substansgiva i annan forskning (etiskt tillstånd dnr 5.8.18-15533/2018). Kontrollgrupp saknas och studien blev därför huvudsakligen deskriptiv.

#### 3.2. Träningsprogrammet

På Karolinska Institutet har ett socialiseringsprogram utförts under flera års tid i syfte att vänja kaniner vid hantering av människor innan de används i försök. Programmet går ut på systematisk kontakt med människor som gradvis utökas över någon veckas tid. Detta kan innefatta exempelvis beröring och lyft. Till följd av programmet så har personalen upplevt kaninerna som lättare att hantera och mindre stressade vid hantering.

#### 3.3. Studiedesign

Efter ankomst (dag 1) vägdes kaninerna och gavs därefter fyra dygns acklimatiseringstid innan hanteringen påbörjades (dag 5 t.o.m. dag 12). Studien genomfördes dagtid, mellan kl. 10:00-14:00, under dygn 5, 6, 8 och 12.

##### 3.3.1. Dokumentation av träningsprogrammet

Socialisering, lyft och peroral administrering dokumenterades i film och foto med hjälp av en Nikon D90 systemkamera och en Samsung Galaxy telefon. En intervju hölls dag 5 med ansvarig personal på anläggningen angående kaninerna och träningen. Under intervju förhördes personalen kring människornas hantering av ka-

ninerna under de dygn och de delar av dygnet som inföll utanför studiens genomförande. De utfrågades även kring angivna kriterier för hanterings utförande, duration, intervaller och journalföring. Socialiseringen demonstrerades i samband med intervjun. Observation och dokumentation av rutiner för socialisering och lyft genomfördes dag 6, samt för peroral administrering dag 8.

### 3.3.2. Andningsfrekvens

Kaninernas andningsfrekvens mättes manuellt under varje approach test och under socialiseringen dag 6 och dag 12. Metoden valdes eftersom den är icke-invasiv och ej kräver någon utrustning som kan störa kaninen eller resultatet.

### 3.3.3. Beteendeanalys

Filmerna analyserades med hjälp av ett system (Tabell 1) likt det använt av Podberscek *et al.* (1991). Definierade beteenden beskrivna av Podberscek *et al.* (1991), Chu *et al.* (2004) och Krall *et al.* (2019) indelades i antingen ”tecken på lugn” eller ”tecken på stress” och tilldelades ett värde om 1 respektive 0. Vid gränsfall gavs värdet 0,5. Efteråt sammanställdes en snittpoäng för den aktuella testperioden; beteendet under socialisering eller beteende under respektive approach test. En lägre snittpoäng indikerade att kaninen var mer rädd under momentet.

Tabell 1. Definierade kaninbeteenden, översatt från (Podberscek *et al.* 1991; Chu *et al.* 2004; Krall *et al.* 2019)

	Tecken på lugn (1)	Tecken på rädsla (0)
<b>Ögon</b>	Avslappnade, halvstängda, mer mandelformade	Alerta, uppspärade, mer rundade
<b>Öron</b>	Avslappnade, cirka 70° vinkel	Upprätta, cirka 90° vinkel
<b>Kropp</b>	Liggande, avslappnad	Står spänd, bakpartiet höjt
<b>Ben</b>	Benen under kroppen	Benen stela, utsträckta
<b>Rörelse</b>	Mjuk rörelse	Ryckig, spänd rörelse
<b>Rörelsens riktning</b>	Utforskning (rörelse mot människan och runt i buren)	Flykt (rörelse bort från människan)
<b>Stillhet</b>	Vila (avslappnad, liggande)	Frysning (spänd immobilitet)
<b>Övrigt</b>	Pälstvättning Foder- eller vattenintag Koprofagi	Överdriven pälstvättning Stampning Vokalisering Abnormt beteende

### 3.3.4. Approach test

Dag 6 och 12 genomfördes ett modifierat approach test med kaninen kvar i sin bur. Testpersonen ställde sig först 0,5 meter från buren och öppnade buren försiktigt. Handen placerades precis in över burens främre kant. "Tid till första kontakt", "antal kontakter" och "närmanden till <5 cm från handen" noterades. Kontakt definierades som att kaninens nos berörde människans hand. Ifall mer än 60 sekunder passerade så registrerades "tid till första kontakt" som 60 sekunder. Approach test genomfördes både cirka 30 minuter före och 30 minuter efter socialiseringen. Detta för att kunna utreda effekter i nära anslutning till hanteringen.

Vistelse under sitthyllan kan bero på att kaninen söker skydd medan vistelse i burens bakre halva kan tyda på att kaninen undviker kontakt med människan. Av den anledningen så registrerades även kaninens lokalisation i buren under testet genom att buren indelades i fyra zoner enligt nedanstående schema (figur 6). Durationen i varje zon noterades. Handen var alltid placerad inom den centrala tredjedelen längs framkanten mellan zon C och zon D, så att kaninen hade handen inom sitt synfält oavsett var den befann sig i buren.

<b>Zon A</b> Burens bakre halva Under sitthyllan	<b>Zon B</b> Burens bakre halva Utanför sitthyllan
<b>Zon C</b> Burens främre halva Under sitthyllan	<b>Zon D</b> Burens främre halva Utanför sitthyllan

Figur 6. Buren indelad i zoner.

För att få så tydliga resultat som möjligt hade det föredragsvis utförts ett approach test vid ankomst (dag 1) och vid socialiseringens första dag (dag 5) istället för den andra (dag 6), men på grund av dataförlust och logistiska begränsningar var det ej möjligt i detta fall.

### 3.4. Databearbetning

Icke-parametrisk analys utfördes med hjälp av den statistiska programvaran InVivoStat. Wilcoxons teckenrangtest tillämpades för att undersöka ifall det rädde signifikant skillnad ( $p < 0,05$ ) i resultaten från beteendeanalysen och approach test mellan dag 6 och dag 12, samt för jämförelse av resultaten före och efter socialisering. Det nyttjades för att utreda påverkan på andningsfrekvens. Deskriptiv analys tillämpades för bedömning av kaninernas lokalisation.

## 4. Resultat

### 4.1. Dokumentation av träningsprogrammet

I detta avsnitt följer en redogörelse av träningsprogrammets utförande, baserad på direkta observationer, dokumentation i film och foto, samt beskrivningar under intervju. Programmet har utförts på Karolinska Institutet under många års tid i syfte att vänja kaniner vid hantering av människor innan de används i försök. Personalen har upplevt kaninerna som lättare att hantera och mindre stressade vid hantering till följd av det implementerade programmet.

#### 4.1.1. Acklimatisering

Efter ankomst kontrollerades öronmärkning, översiktlig hälsostatus och vikt innan kaninerna placerades i sina separata burar genom lyft med grepp om nackskinnet och stöd under bakpartiet. Metod för lyft beskrivs utförligare i senare avsnitt. Efterföljande tre dygn tilläts kaninerna acklimatisera sig till den nya miljön. Under denna period hade de ej fysisk kontakt med människor.

Från och med dag 1 invandes kaninerna vid människans närvaro ett par gånger dagligen genom att personalen knackade på dörren, trädde in i rummet och pratade lugnt med djuren under några minuters tid. Detta sammanföll ofta med personalens sedvanliga uppgifter såsom utfodring, städning eller visuell bedömning av djurens mående. Utfodring och städning krävde att burdörren öppnades.

#### 4.1.2. Socialisering

Socialiseringen angavs kunna påbörjas från och med dag 3, men eftersom dagen i detta fall inföll på en lördag så sköts den upp. Från och med dag 5 invandes kaninerna därför vid fysisk kontakt av en människa. Tre olika personer angavs utföra den fysiska kontakten med djuren under studiens gång. Frekvens eller duration för hanteringen var ej specificerad, men beskrevs infalla ”ett par gånger dagligen”. Hanteringen journalfördes ej av personalen. Under studiens gång journalfördes enbart vikt och oral substansgiva.

Före varje session förbereddes kaninerna för inträde i rummet genom ett par knackningar på rummets dörr. Burens gallerdörr öppnades försiktigt för att begränsa mängden störande ljud. För att underlätta utövandet av hanteringen så lyftes sitthyllan upp så att den ej var åtkomlig för kaninen under sessionen, därefter påbörjades socialiseringen. Kaninen smektes först över panna, kinder och öron, därefter vidare över skuldror och rygg (figur 7). Eftersom kaninerna skulle vänjas vid peroral substansgiva inriktades hanteringen på beröring i huvudregionen.



*Figur 7. Kaniner under socialisering*

Rutinen utfördes iklädd vinylhandskar som ej avlägsnades igen förrän efter att samtliga sex kaniner hade hanterats. I samband med hanteringen fanns ingen specifikt avsedd belöning, men den inföll ofta före den normala påfyllningen av pellets eller lucernhack.

Genom hela hanteringen pratade personen med en lugn, mjuk ton. Det angavs att träningsprogrammet normalt sett även involverade en radio påslagen i rummet dagtid, men denna rutin var tillfälligt inställd på grund av nyliga lokalförändringar.

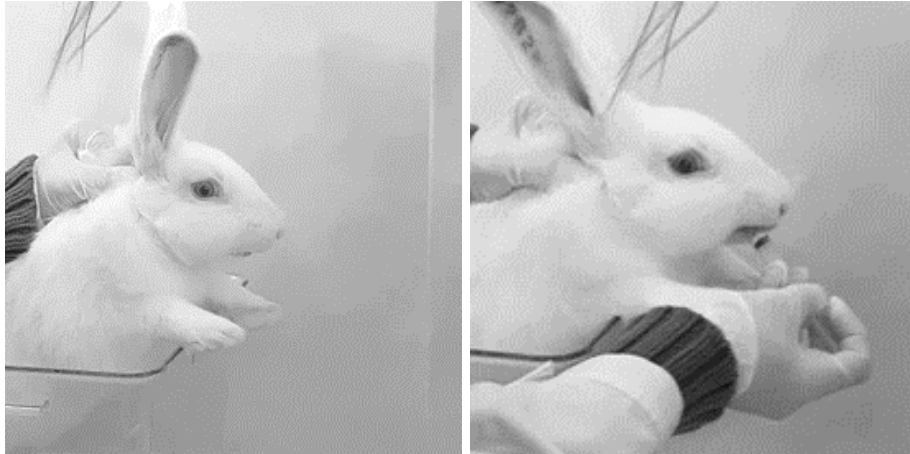
#### 4.1.3. Fasthållning

Kaninerna lyftes vid ankomst (dag 1), vid vägning (dag 6) samt vid peroral substansgiva i samband med vägning (dag 8 och dag 9). På grund av helgdagar så utfördes ej träning av substansgiva dag 10 och dag 11. Innan lyft så hanterades alltid kaninerna likt beskrivet i föregående avsnitt. Med kaninens framparti vänt mot buröppningen så lyftes den med en hand stadigt greppad kring nackskinnets och med den andra som stöd under kaninens bakdel. Kaninen stöttades därefter mot den ena armen och kunde fixeras mot bröstkorgen som illustrerat i bilderna nedan (figur 8).



*Figur 8. Grepp under pågående förflyttning*

Kaninen lyftes ut ur buren till en plastlåda utan lock på ett bord några meter från buren. Genom ett stadigt grepp kring nackskinnnet så höjdes kaninens framparti så att framtassar, och ibland även huvud, kunde stöttas på plastlådans ena kortsida (figur 9). Cirka 3 ml vatten administrerades i kaninens mungipa med hjälp av en 10 ml spruta utan nål. Den substans som kaninerna skulle administreras i efterföljande studie var illasmakande och sannolikheten bedömdes låg att den skulle intas frivilligt, därför ansågs invänjning vid denna typ av fasthållning nödvändig vid administrationen.



*Figur 9. Grepp under pågående peroral substansgiva.*

Efter den första givan så lossades greppet och kaninen placerades kortvarigt åter i lådan innan processen upprepades ytterligare en gång. Före, mellan och efter substansgivor så smektes kaninen över kroppen likt beskrivet i föregående avsnitt.

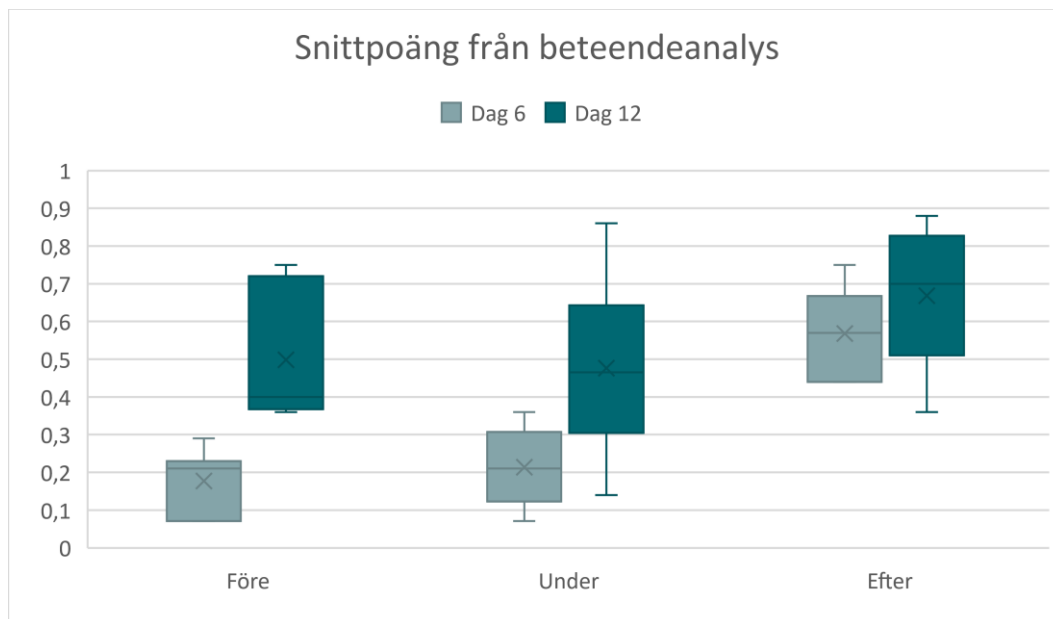
När kaninen placerades tillbaka i buren så nyttjades återigen handtag om nackskinnnet. Kaninen lyftes in med bakdelen först och huvudet riktat mot burens öppning innan greppet släpptes, med motiveringen att det minimerade skaderisken som kunde uppstå ifall kaninen skulle ta ett språng in i buren. Kaninen smektes ytterligare ett par gånger efteråt.

## 4.2. Beteendeanalys

Den statistiska analysen visade en signifikant ökning av kaninernas snittpoäng dag 12 jämfört med dag 6 både före ( $p = 0,028$ ) och under ( $p = 0,042$ ) socialisering. Denna skillnad mellan dagarna förelåg ej vid jämförelse av beteendeanalys som genomförts 30 minuter efter socialisering (figur 10).

Dag 6 förelåg en signifikant ökning av snittpoäng för beteendet 30 minuter efter socialiseringen jämfört med 30 minuter före den ( $p = 0,027$ ). Detta samband gick ej att se vid analys av data från dag 12. Se figur nedan.

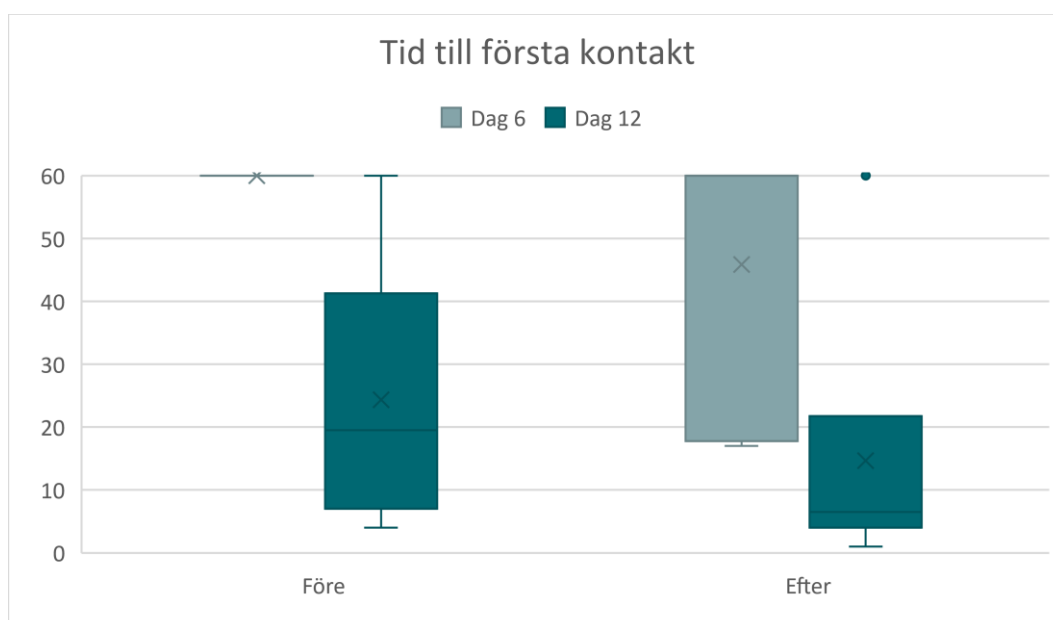




Figur 10. Kaninernas snittpoäng vid beteendeanalys under studiens gång.

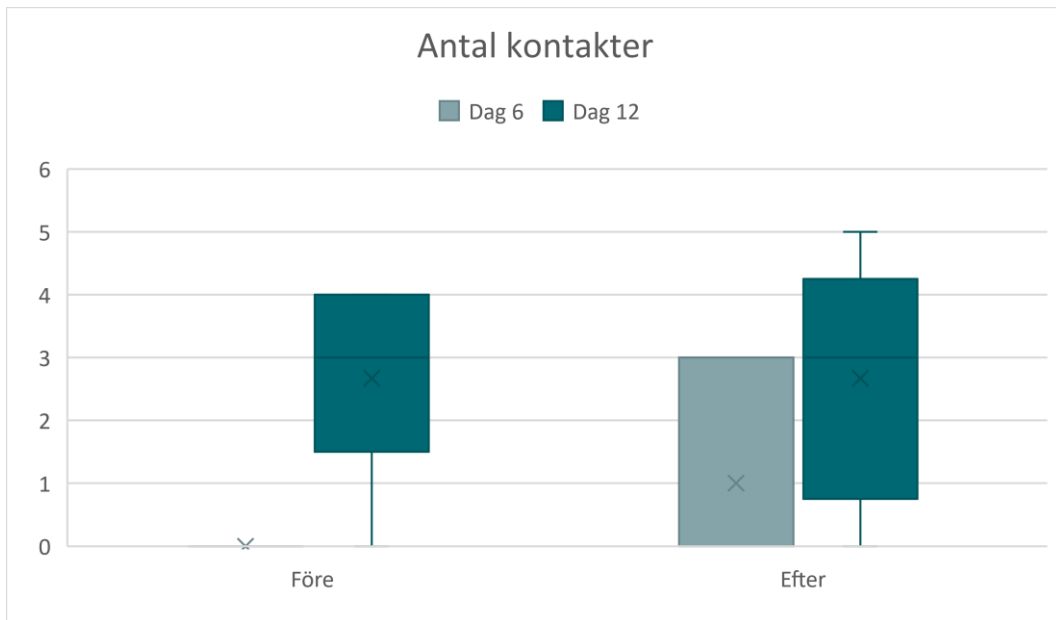
### 4.3. Approach test

Kaninerna tog ingen kontakt med människan under det första approach testet. Det gick däremot ej att se någon signifikant skillnad i tid till första kontakt dag 12 jämfört med dag 6, eller 30 minuter före jämfört med 30 minuter efter socialisering (figur 11).



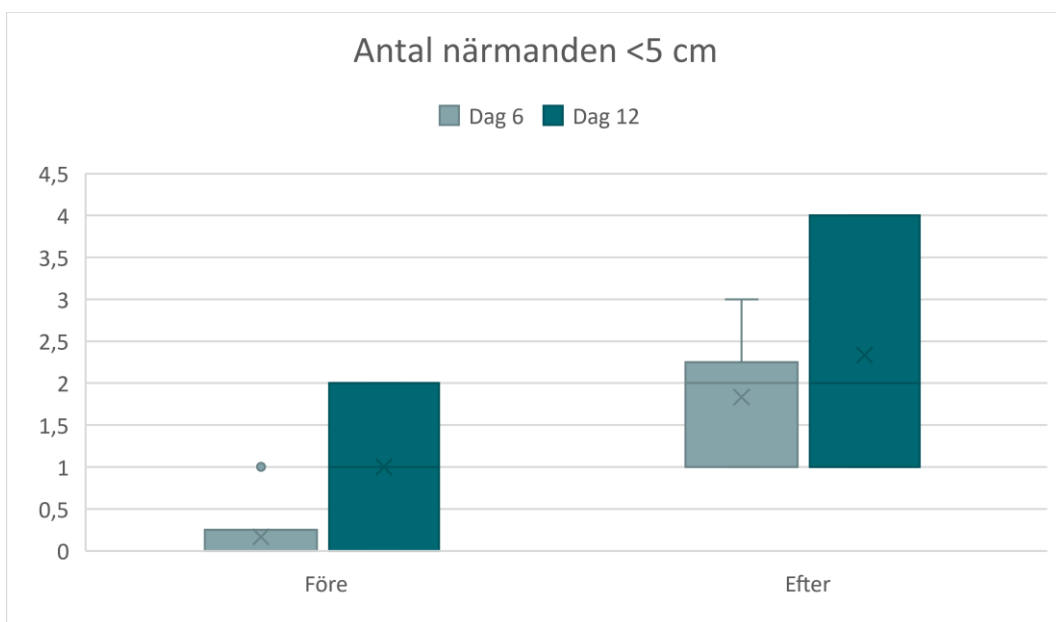
Figur 11. Tid i sekunder till första kontakt under studiens approach tester.

Signifikant fler kontakter förelåg vid approach testet som genomfördes 30 minuter före socialisering dag 12, i jämförelse med det som genomfördes 30 minuter före socialisering dag 6 ( $p = 0,041$ ). Inga signifikanta skillnader sågs vid jämförelse av tester före och efter socialisering utförda samma dag (figur 12).



Figur 12. Antal kontakter under studiens approach tester.

Dag 6 sågs en signifikant skillnad i antal närmanden till  $< 5$  cm från människans hand före socialisering, jämfört med efteråt ( $p = 0,039$ ). Denna skillnad sågs ej under dag 12. Ingen signifikant skillnad fanns mellan de olika dagarna (figur 13).



Figur 13. Antal närmanden  $< 5$  cm under studiens approach tester.

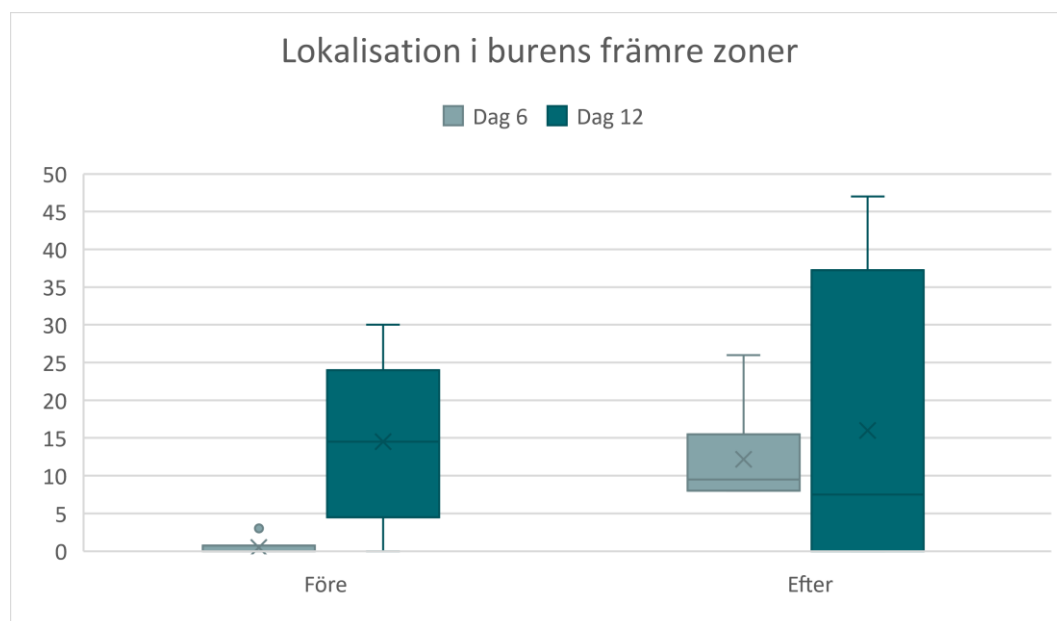
### 4.3.1. Lokalisation

Andelen tillbringad tid i de olika zonerna skilde sig åt mellan dagarna (tabell 2). Dag 6 tillbringades huvuddelen av tiden i zon A, medan dag 12 hade andelen tid tillbringad i övriga zoner ökat.

Tabell 2. Procentuell fördelning av kaninernas lokalisation under respektive approach test.

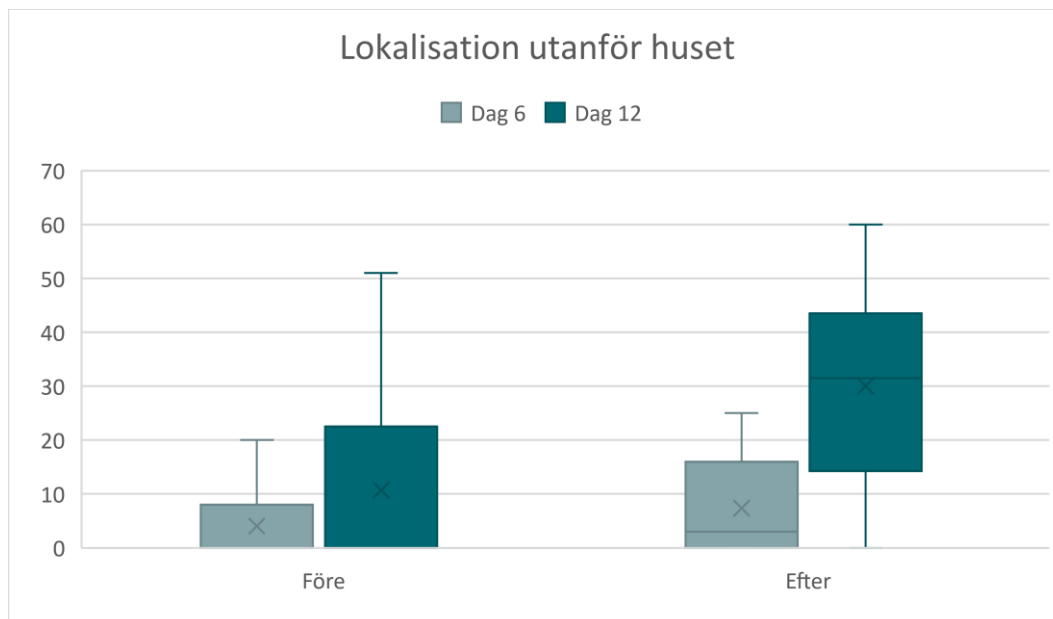
	Zon A	Zon B	Zon C	Zon D
Dag 6				
Före socialisering	92,5%	6,7%	0,8%	0%
Efter socialisering	70,3%	9,4%	17,5%	2,8%
Dag 12				
Före socialisering	62,2%	13,6%	20%	4,4%
Efter socialisering	26,4%	41,7%	28,9%	3,1%

Dag 12 tillbringades signifikant mer tid ( $p = 0,43$ ) i burens främre zoner (C + D) under approach testerna jämfört med dag 6. En signifikant ökning sågs även 30 minuter efter socialisering jämfört med före dag 6 ( $p = 0,027$ ), men ingen signifikant skillnad sågs dag 12 (figur 14).



Figur 14. Vistelse i burens främre zoner (C + D), mätt i sekunder, före och efter socialisering.

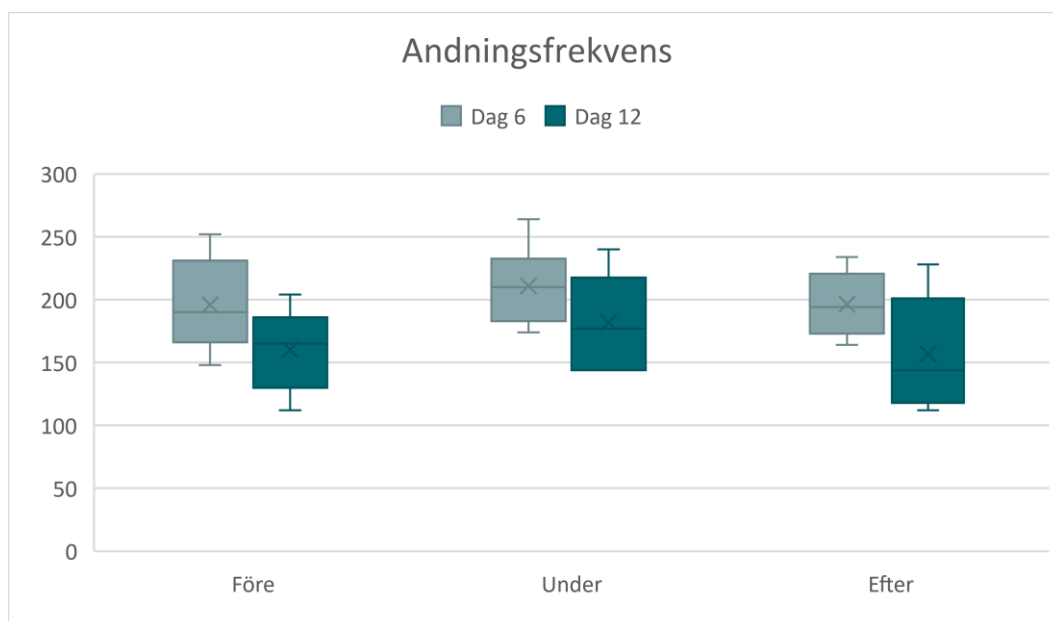
Ingen signifikant skillnad sågs mellan dag 12 och dag 6 vid granskning av vistelsen i zonerna utanför sitthyllan (B + D) under approach testerna. Dag 12 ökade andelen tillbringad tid utanför huset efter socialisering signifikant ( $p = 0,043$ ), men detta gick ej att se dag 6 (figur 15).



Figur 15. Vistelse utanför sitthyllan ( $B + D$ ), mätt i sekunder, före och efter socialisering.

#### 4.4. Andningsfrekvens

Andningsfrekvenserna var överlag lägre vid mätningarna under dag 12 (figur 16) men ingen signifikant skillnad i andningsfrekvens gick att påvisa statistiskt.



Figur 16. Kaninernas andningsfrekvens, mätt i andetag per minut, under studiens olika skeden.

## 5. Diskussion

I dagsläget existerar inget bevisat effektivt hanteringsprotokoll för att reducera vuxna kaniners rädsla gentemot människor. Implementering av ett sådant program har inte bara potential att förbättra djurvälståndet (Podberscek *et al.* 1991), utan även att bidra till säkrare forskningsresultat. Träningsprogrammet på Karolinska Institutet kan vara ett av de första av sitt slag.

Det finns en rad olika studier som visat att systematisk hantering av kaniner leder till reducerad rädsla för människor, men ingen som har utvärderat utförandet av ett träningsprogram. Tidigare forskning har framför allt inriktats på hantering av kaniner före avvänjning (Anderson *et al.* 1972; Kersten *et al.* 1989; Jezierski & Konecka 1996; Pongrácz & Altbäcker 1999, 2003; Pongrácz *et al.* 2001; Csáti *et al.* 2005, 2007; Pritt *et al.* 2008; Dúcs *et al.* 2009; Verwer *et al.* 2009; Zucca *et al.* 2012) medan enbart ett fåtal studier har granskat effekten av hantering hos äldre djur (Podberscek *et al.* 1991; Swennes *et al.* 2011; Öhrman 2017).

Samtlig forskning pekar dock på att hantering kan leda till ökad medgörlighet och reducerad rädsla för människor. Enligt personal på Karolinska Institutet så upplevs kaninerna som mer hanterbara och mindre stressade till följd av programmet. Denna studie har gett likartade resultat, vilket ska diskuteras närmare i kommande avsnitt.

### 5.1. Utformning

Programmet har en okomplicerad struktur med få strikt definierade riktlinjer, och blir därmed lätt att anpassa efter en variation av olika verksamheter såväl som människor med olika kompetens. Träningsprogrammet kunde ofta sammanfalla med personalens sedvanliga uppgifter.

Efter en aklimatiseringsperiod angavs socialiseringen kunna påbörjas från och med dag 3. Kaninen smektes då ett par gånger dagligen över kroppen med ett tillvägagångssätt som liknar det beskrivet av Swennes *et al.* (2011). Den studien beskriver dock hur kaninen avlägsnades från buren inför varje hanteringstillfälle, vilket skiljer sig från utförandet på Karolinska Institutet där socialiseringen enbart skedde med kaninen kvar i buren. Sannolikt innebär detta förfarande att socialiseringen blir en mer betryggande process för kaninen eftersom den slipper den stress som en förflyttning innebär. Potentiellt kan socialisering också bidra till en dämpning av rädslan som en efterföljande fasthållning innebär.

Fasthållning introducerades först senare under programmet (dag 6) och inföll alltid efter socialiseringen, istället för tvärtom. När kaninen lyftes ur buren så nyttjades ett stadigt grepp kring nackskinnet. Det är den metod som i litteraturen beskrivs

vara den vanligen tillämpade för kaniner i forskning (Donovan & Brown 2006; Pekow 2020) och samtidigt var den signifikant mindre tillämpade i en brittisk enkätstudie av Oxley *et al.* (2019), oftast med motiveringen att den ansågs olämplig för arten. I enkätstudien hade enbart 3,1% av respondenterna arbetat inom forskningssektorn, så det är möjligt att det råder en diskrepans i synen på lämpligast metod för sällskapsdjur jämfört med för försöksdjur.

Det saknas studier kring vilken fasthållningsmetod som är bäst lämpad för kaniner, men en studie på råttor demonstrerade en signifikant ökning av stresshormoner när nackskinnsgrepp nyttjades jämfört med en minimalt fixerande metod (Stuart & Robinson 2015) vilket kan tyda på att grepp kring nackskinnet har negativ inverkan på djurvälfaerden. Samtidigt beskrivs otillräcklig fixering presentera en risk för skada på personal eller kanin (Donovan & Brown 2006). Fler studier krävs för att fastställa den lämpligaste metoden för fasthållning.

Efter det initiala lyftet så hölls kaninen fast intill kroppen med en metod som går att bedöma som visuellt liknande den metod som anges i enkätstudien av Oxley *et al.* (2019) vara den vanligaste. Se jämförande illustrationer nedan (figur 17 och 18).



Figur 17. Greppet under studien.



Figur 18. Grepp under arm.

Som ett sista steg i programmet (dag 8) invandades kaninerna vid oral substansgiva genom att vatten administrerades i kaninens mungipa med hjälp av en spruta. Under processen hölls kaninen fast med grepp kring nackskinnet. Det motiverades behövas under fixering på grund av att substansen i efterföljande studie skulle vara illasmakande och sannolikt ej intas frivilligt. Detta indikerar att programmet är anpassbart efter det ändamål som kaninen ska användas för. Det angavs att träningsprogrammet även innefattar strategier för tillvänjning inför blodprovstagningar och ögontrycksmätningar.

Vid återplacering i buren så riktades kaninens framparti mot burens öppning, i syfte att minska eventuell skaderisk till följd av en utlöst flyktinstinkt.

## 5.2. Effekter

### 5.2.1. Effekter direkt efter socialisering

Dag 6 gick en påverkan på kaninens beteende att observera vid jämförelse av beteendeanalys under approach test 30 minuter före och 30 minuter efter hantering (figur 10). Beteendeanalysens snittpoäng ökade signifikant. Kaninen visade alltså på fler tecken på lugn efter socialisering. Detta pekar på att kaninerna redan blivit lugnare och fått reducerad rädsla mot människor. Det gick också att se en signifikant ökning av antal närmanden <5 cm (figur 13) och ökad vistelse i burens främre halva, zon C & D (figur 14). Eftersom människan höll sin hand i burens främre halva går detta att betrakta som ännu ett bevis för att kaninerna blivit mer bekväma med människor direkt efter socialiseringen.

Vid analys av resultaten från dag 12 sågs däremot inga signifikanta skillnader från beteendeanalys eller antal närmanden <5 cm vid jämförelse av approach tester utförda 30 minuter före och 30 minuter efter hantering. Kaninerna tillbringade däremot signifikant mer tid utanför huset, i zon B och D (figur 15), efter socialisering. Detta kan tyda på att kaninerna blivit lite modigare direkt efter socialisering.

Att fler signifikanta skillnader direkt efter socialisering går att observera dag 6 jämfört med dag 12 kan bero på att kaninerna blivit mer vana vid människor i slutet av träningsprogrammet eller att hanteringen har fler omedelbara effekter i början.

### 5.2.2. Effekter efter träningsprogrammets fullföljande

På sex dygn ökade snittpoängen för kaninerna signifikant ( $p < 0.05$ ) både före och under socialisering (figur 10). Dag 12 valde kaninerna att ta kontakt med människan fler gånger än de hade gjort i början av hanteringen (figur 12). Slutligen lokaliserade de sig mer i burens främre del medan människans hand var sträckt in till den delen av buren (figur 14). Samtliga fynd tyder på att kaninerna blivit mindre rädda för människor efter träningsprogrammets fullföljande. Ingen signifikant ökning sågs däremot rörande antal närmanden <5 cm från människans hand (figur 13) eller tid till första kontakt (figur 11). Det är möjligt att detta resultat hade sett annorlunda ut ifall tidsgränsen för approach testet hade varit högre än 60 sekunder.

### 5.2.3. Förväntade effekter

Kaninen är ett bytesdjur (Mullan & Main 2007) och människan utgör potentiellt en permanent källa till stress (Pongrácz & Altbäcker 1999), vilket kan bidra till försämrad djurvälstånd (Csatádi *et al.* 2005) eller påverkade forskningsresultat genom dess bevisade effekt på diverse kemiska och fysiologiska parametrar (Jeziński & Konecka 1996; Pongrácz & Altbäcker 1999; Olivier *et al.* 2003; Baías *et al.* 2012;

Fazio *et al.* 2015; Stuart & Robinson 2015). Metoder som reducerar stress kan således bidra till både förfining av djurförsök genom förbättrad djurvälstånd och minskning av antal djur som krävs i forskningen genom säkrare forskningsresultat, i överensstämmelse med 3R-principen (replace, reduce, refine).

Andningsfrekvens är en av de parametrar som påverkas av stress (Pekow 2005; Baías *et al.* 2012). I denna studie sågs inte den förväntade effekten på kaninens andningsfrekvens varken före, under eller efter socialisering (figur 16). Detta skulle kunna indikera att socialisering saknar påverkan på kaninens stressrespons, men en sådan slutsats överensstämmer inte med de vetenskapliga fynd som existerar i dagens forskning (Pekow 2005; Baías *et al.* 2012) eller med resultaten av approach test och beteendeanalysen i denna studie. Det är möjligt att människors närvaro vid mätningarna har påverkat resultatet, och att en signifikant skillnad ses först ifall den mätts vid andra tillfällen över dagen istället för i direkt anslutning till socialiseringen.

Det är också möjligt att andningsfrekvens inte är lämplig som enda indikator för stress hos kanin. Mätning av stress är ett komplext område som sannolikt kräver mätning av fler fysiologiska parametrar, som exempelvis hjärtfrekvens, kroppstemperatur, fekalt kortikosteron eller hematologiska stressmarkörer. Dessa parametrar kan dock kräva mer invasiva eller kostsamma metoder än en visuell bedömning av andningsfrekvens.

### 5.3. Faktorer som kan påverka resultatet

#### 5.3.1. Belöning

Till följd av klassisk betingning kan belöning bidra till ökad medgörlighet (Davis & Gibson 2000). Det angavs att träningsprogrammet inte innefattade något särskilt belöningsystem. Hanteringen inföll dock ofta i samband med den normala påfyllningen av pellets eller lucernhack, vilket kan utgöra en form av belöning även om det ej var avsikten. Det är okänt hur ofta denna oavsedda belöning skedde och vilken grad av inverkan den har haft på slutresultatet.

#### 5.3.2. Lukt och ljud

Handskar byttes ej emellan varje kanin, vilket riskerar att dämpa människans doft eller innebära att den blandas med doften av andra kaniner. Studier har visat att luktsinnet utgör en viktig faktor vid hantering av kaninungar (Dúcs *et al.* 2009; Zucca *et al.* 2012), men det återstår att se ifall lukt har en likartad signifikant roll vid hantering av vuxna kaniner. Det går således ej att fastställa ifall ett byte av handskar hade kunnat påverka effekten av hanteringen i denna studie.



Ljud kan ge upphov till stress (McBride 2017), men huruvida tillvänjning till ljudet av röster bidrar till minskad rädsla vid hantering av människor har inte utretts tidigare. Både detta träningsprogram och hanteringen beskriven av Jezierski & Konecka (1996) innefattade lugnt, mjukt tal, och det beskrevs hur träningsprogrammet normalt sett även innefattade att ha en radio påslagen dagtid. Det går ej att fastslå vilken effekt denna rutin har haft på resultatet av hanteringen.

### 5.3.3. Kaninernas bakgrund

Kaninerna studerades först från och med 4 månaders ålder, och det var ej känt hur de hanterats eller hållits innan de ingick i studien. Faktorer under uppväxten (Kehoe *et al.* 1995), tidigare hantering (Jezierski & Konecka 1996) och inhysningssystem (Trocino *et al.* 2014) kan påverka effekten av hantering senare i livet. Även det genetiska arvet (Price 1984) och potentiellt även moderns egenskaper eller bakgrund (Kersten *et al.* 1989) kan ha inverkan.

### 5.3.4. Inhysning

Det är känt att reaktionen till följd av stress kan påverkas av miljörelaterade faktorer (Verga *et al.* 2007). Brist på social berikning kan leda till kronisk stress och ett mer begränsat beteendetryck (Noller *et al.* 2013) och kaniner hållna gruppvis i hage har visat mindre rädsla för människor jämfört med kaniner hållna enskilt i bur (Trocino *et al.* 2014), vilket innebär att kaninernas inhysning enskilt i bur kan ha påverkat resultatet av beteendeanalysen. Utfodringen kan också påverka beteendetrycket (Prebble *et al.* 2015), men den exakta effekten av utfodringen i denna studie har ej utvärderats. Temperaturen var 21°C, vilket är inom det rekommenderade temperaturintervallet för kaniner om 15-22°C. Den rekommenderade ljusnivån är 200 lux (Lidfors *et al.* 2007), men ljusnivån i denna studie är okänd. I denna studie kan effekten av ljus på kaninernas beteende och rädsla för människor ej utvärderas.

### 5.3.5. Val av test

Bekräftelse av resultaten med hjälp av flera typer av tester kan öka resultatens säkerhet. Open field test och novel object test har visats vara ospecifika indikatorer för generell rädsla hos kaniner (Irene Olivas & Arantxa Villagr  2012; Buijs & Tuytens 2015), medan approach test och tonic immobility test används specifikt för att utvärdera kaniners rädsla gentemot människor (Verwer *et al.* 2009a).

Tonic immobility test är potentiellt den mest specifika indikatorn eftersom rädslan för människor riskerar att maskeras under approach test ifall de ohanterade kaninerna upplever människor som något nytt och spännande (Cs t di *et al.* 2007). Det  r möjligt att kaninens explorativa motivation då överstiger potentiell rädsla (Krall

*et al.* 2019). Immobilitetsreaktionen är dock en försvarsmekanism mot rovdjur som är förknippad med kraftig rädsla (Ewell *et al.* 1981), vilket gör att approach test kan bedömas vara lämpligare ur djurvälståndssynpunkt. En studie angav att immobilitetstestet genomfördes först 1-2 dygn efter andra test eftersom det bedömdes ha stor inverkan på djuret (Verwer *et al.* 2009a), men det saknas i dagsläget forskning kring immobilitetsreaktionens långsiktiga effekter på kaninen.

## 5.4. Felkällor

Studien saknade kontrollgrupp. Det går således ej att utesluta att andra faktorer än hanteringen haft inverkan på resultatet. Det är möjligt att det beror på exempelvis anpassningar till den nya miljön. Att studien använde ett begränsat antal kaniner, 6 stycken, har sannolikt påverkat den statistiska signifikansen av vissa resultat. Samtliga kaniner var hanar, vilket begränsar möjligheter att dra slutsatser kring hela populationer och om könsskillnader.

Den mänskliga faktorn kan även ha inverkat på resultatet. Eftersom exempelvis mätning av andningsfrekvens skedde manuellt och beteendeanalysen utfördes genom subjektiv icke-blindad bedömning, så utgör dessa områden ytterligare möjliga felkällor.

## 5.5. Vidare forskningsområden

Framtida studier av träningsprogrammet bör öka försöksgruppens storlek, innefatta kaniner av olika kön och använda kontrollgrupp för att kunna bekräfta att det är hanteringen, och ej andra faktorer, som lett till de effekter som ses i slutet av studieperioden. Varje tillfälle som involverar närhet till människor bör journalföras och observeras för att öka studiens säkerhet. Flera kvantifierbara stressparametrar bör tas i beaktning.

Inför utveckling av ett standardiserat utförande bör effekten av definierad duration, tidsintervall och frekvens för hanteringen utredas närmare, så att de kan minimeras till minsta nödvändiga och öka programmets replikerbarhet. Effektens varaktighet kan också vara intressant att studera, eftersom den visats kvarstå i flera månader hos kaniner som hanterats under första levnadsveckan (Pongrácz & Altbäcker 1999). Slutligen bör andra effekter av hantering och andra faktorerers inverkan utredas, såsom lukt, doft, kaninens bakgrund, tonisk immobilitet och vald metod för fasthållning.

## 5.6. Slutsats

Sammanfattningsvis tyder resultaten i denna studie på att Karolinska Institutets träningsprogram för kaniner leder till reducerad rädsla mot människor och styrker tidigare vetenskapliga rön. Mer forskning krävs, men denna studie utgör ett lovande första steg mot implementering av en standardiserad, effektiv metod för socialisering och träning av kaniner i medicinsk forskning.

## Referenser

- Anderson, C.O., Denenberg, V.H. & Zarrow, M.X. (1972). Effects of handling and social isolation upon the rabbit's behaviour. *Behaviour*, vol. 43 (1/4), ss. 165–175 Brill.
- Andersson, A., Laikre, L. & Bergvall, U.A. (2014). Two shades of boldness: novel object and anti-predator behavior reflect different personality dimensions in domestic rabbits. *Journal of Ethology*, vol. 32 (3), ss. 123–136
- Baias, A., Bodnariu, A., Nichita, I. & Cristina, R.T. (2012). Stress in laboratory juvenile rabbits: physiological indicators. *Scientific Papers*, s. 5
- Bilkó, Á. & Altbäcker, V. (2000). Regular handling early in the nursing period eliminates fear responses toward human beings in wild and domestic rabbits. *Developmental Psychobiology*, vol. 36 (1), ss. 78–87
- Bradbury, A.G. & Dickens, G.J.E. (2016). Appropriate handling of pet rabbits: a literature review. *Journal of Small Animal Practice*, vol. 57 (10), ss. 503–509
- Buijs, S. & Tuytens, F.A.M. (2015). Evaluating the effect of semi-group housing of rabbit does on their offspring's fearfulness: can we use the open-field test? *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 162, ss. 58–66
- Chu, L., Garner, J.P. & Mench, J.A. (2004). A behavioral comparison of New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) housed individually or in pairs in conventional laboratory cages. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 85 (1), ss. 121–139
- Csatádi, K., Ágnes, B. & Vilmos, A. (2007). Specificity of early handling: Are rabbit pups able to distinguish between people? *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 107 (3), ss. 322–327
- Csatádi, K., Kustos, K., Eiben, Cs., Bilkó, Á. & Altbäcker, V. (2005). Even minimal human contact linked to nursing reduces fear responses toward humans in rabbits. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 95 (1), ss. 123–128
- Davis, H. & Gibson, J. (2000). Can rabbits tell humans apart?: Discrimination of individual humans and its implications for animal research. *Comparative medicine*, vol. 50, ss. 483–5
- Donovan, J. & Brown, P. (2006). Handling and restraint. *Current Protocols in Immunology*, vol. 73 (1), s. 1.3.1-1.3.6
- Dúcs, A., Bilkó, Á. & Altbäcker, V. (2009). Physical contact while handling is not necessary to reduce fearfulness in the rabbit. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 121 (1), ss. 51–54
- Europeiska kommissionen (2020). *Rapport 2019 om statistiska uppgifter om användningen av djur för vetenskapliga ändamål i Europeiska unionens medlemsstater 2015-2017*. (Rapport från kommissionen till europaparlamentet och rådet). Bryssel: Europeiska kommissionen. Tillgänglig: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:52020DC0016&from=EN> [2020-12-08]

- Ewell, A.H., Cullen, J.M. & Woodruff, M.L. (1981). Tonic immobility as a predator-defense in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Behavioral and Neural Biology*, vol. 31 (4), ss. 483–489
- Fazio, F., Casella, S., Giudice, E., Giannetto, C. & Piccione, G. (2015). Evaluation of secondary stress biomarkers during road transport in rabbit. *Livestock Science*, vol. 173, ss. 106–110
- Gallup, G.G. (1974). Animal hypnosis: factual status of a fictional concept. *Psychological Bulletin*, vol. 81 (11), ss. 836–853
- Giannico, A.T., Lima, L., Lange, R.R., Froes, T.R. & Montiani-Ferreira, F. (2014). Proven cardiac changes during death-feigning (tonic immobility) in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 200 (4), ss. 305–310
- Gunn, D. & Morton, D.B. (1995). Inventory of the behaviour of New Zealand White rabbits in laboratory cages. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 45 (3), ss. 277–292
- Humphreys, R.K. & Ruxton, G.D. (2018). A review of thanatosis (death feigning) as an anti-predator behaviour. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol. 72 (2), s. 22
- Irene Olivas & Arantxa Villagr  (2012). Assessing fear in rabbits. Preliminary results. *Proceedings of 2012 IX International Livestock Environment Symposium (ILES IX)*, 2012. American Society of Agricultural and Biological Engineers
- Jeziarski, T.A. & Konecka, A.M. (1996). Handling and rearing results in young rabbits. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 46 (3), ss. 243–250
- Kehoe, E.J., Horne, A.J., Kingham, J., Martin, T. & Roach, W. (1995). Acquisition of a conditioned reflex in New Zealand White rabbits from three sources. *Laboratory Animals*, vol. 29 (4), ss. 394–399 SAGE Publications.
- Kersten, A.M.P., Meijsser, F.M. & Metz, J.H.M. (1989). Effects of early handling on later open-field behaviour in rabbits. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 24 (2), ss. 157–167
- Krall, C., Glass, S., Dancourt, G., Adams, M., Koenig, K. & Hutchinson, E.K. (2019). Behavioural anxiety predisposes rabbits to intra-operative apnoea and cardiorespiratory instability. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 221, s. 104875
- Lidfors, L., Edstr m, T. & Lindberg, L. (2007). The welfare of laboratory rabbits. I: Kalliste, E. (red.) *The Welfare of Laboratory Animals*. Dordrecht: Springer Netherlands, ss. 211–243.
- McBride, E.A. (2017). Small prey species' behaviour and welfare: implications for veterinary professionals. *Journal of Small Animal Practice*, vol. 58 (8), ss. 423–436
- Mullan, S.M. & Main, D.C.J. (2007). Behaviour and personality of pet rabbits and their interactions with their owners. *Veterinary Record*, vol. 160 (15), ss. 516–520 British Medical Journal Publishing Group.

- Nash, R.F. & Gallup, G.G. (1976). Habituation and tonic immobility in domestic chickens. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, vol. 90 (9), ss. 870–876
- Noller, C.M., Szeto, A., Mendez, A.J., Llabre, M.M., Gonzales, J.A., Rossetti, M.A., Schneiderman, N. & McCabe, P.M. (2013). The influence of social environment on endocrine, cardiovascular and tissue responses in the rabbit. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 88 (3), ss. 282–288 (Psychophysiology of Relationships)
- Olivier, B., Zethof, T., Pattij, T., van Boogaert, M., van Oorschot, R., Leahy, C., Oosting, R., Bouwknecht, A., Veening, J., van der Gugten, J. & Groenink, L. (2003). Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. *European Journal of Pharmacology*, vol. 463 (1), ss. 117–132 (Animal Models of Anxiety Disorders)
- Oxley, J.A., Ellis, C.F., McBride, E.A. & McCormick, W.D. (2019). A survey of rabbit handling methods within the United Kingdom and the Republic of Ireland. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, vol. 22 (3), ss. 207–218 Routledge.
- Papaioannou, A., Gerozissis, K., Prokopiou, A., Bolaris, S. & Stylianopoulou, F. (2002). Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and the vulnerability for depressive behaviour. *Behavioural Brain Research*, vol. 129 (1), ss. 131–139
- Pekow, C. (2005). Defining, measuring, and interpreting stress in laboratory animals. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, vol. 44 (2), s. 41–45
- Pekow, C.A. (2012). Chapter 10 - Basic experimental methods in the rabbit. I: Suckow, M.A., Stevens, K.A., & Wilson, R.P. (red.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*. Boston: Academic Press, ss. 243–258.
- Podberscek, A.L., Blackshaw, J.K. & Beattie, A.W. (1991). The effects of repeated handling by familiar and unfamiliar people on rabbits in individual cages and group pens. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 28 (4), ss. 365–373
- Pongrácz, P. & Altbäcker, V. (1999). The effect of early handling is dependent upon the state of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) pups around nursing. *Developmental Psychobiology*, vol. 35 (3), ss. 241–251
- Pongrácz, P. & Altbäcker, V. (2003). Arousal, but not nursing, is necessary to elicit a decreased fear reaction toward humans in rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) pups. *Developmental Psychobiology*, vol. 43 (3), ss. 192–199
- Pongrácz, P., Altbäcker, V. & Fenes, D. (2001). Human handling might interfere with conspecific recognition in the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Developmental Psychobiology*, vol. 39 (1), ss. 53–62
- Prebble, J.L., Langford, F.M., Shaw, D.J. & Meredith, A.L. (2015). The effect of four different feeding regimes on rabbit behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 169, ss. 86–92
- Price, E.O. (1984). Behavioral aspects of animal domestication. *The Quarterly Review of Biology*, vol. 59 (1), ss. 1–32 University of Chicago Press.

- Pritt, S., Wood, J., Fetter, B. & Kline, B. (2008). Socialization of Dutch belted rabbits for use in research: preliminary outcomes. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, 10-13 June 2008*, ss. 1229–1232 World Rabbit Science Association.
- Stuart, S.A. & Robinson, E.S.J. (2015). Reducing the stress of drug administration: implications for the 3Rs. *Scientific Reports*, vol. 5 (1), s. 14288 Nature Publishing Group.
- Swennes, A.G., Alworth, L.C., Harvey, S.B., Jones, C.A., King, C.S. & Crowell-Davis, S.L. (2011). Human handling promotes compliant behavior in adult laboratory rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, vol. 50 (1), ss. 41–45
- Trocino, A., Filiou, E., Tazzoli, M., Bertotto, D., Negrato, E. & Xiccato, G. (2014). Behaviour and welfare of growing rabbits housed in cages and pens. *Livestock Science*, vol. 167, ss. 305–314
- Verga, M., Luzi, F. & Carenzi, C. (2007). Effects of husbandry and management systems on physiology and behaviour of farmed and laboratory rabbits. *Hormones and Behavior*, vol. 52 (1), ss. 122–129 (Reproductive Behavior in Farm and Laboratory Animals)
- Verwer, C.M., van Amerongen, G., van den Bos, R. & Hendriksen, C.F.M. (2009a). Handling effects on body weight and behaviour of group-housed male rabbits in a laboratory setting. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 117 (1), ss. 93–102
- Verwer, C.M., Ark, A. van der, Amerongen, G. van, Bos, R. van den & Hendriksen, C.F.M. (2009b). Reducing variation in a rabbit vaccine safety study with particular emphasis on housing conditions and handling: *Laboratory Animals*, SAGE PublicationsSage UK: London, England. DOI: <https://doi.org/10.1258/la.2008.007134>
- Whishaw, I.Q., Previsich, N. & Flannigan, K.P. (1978). Tonic immobility in feral and domestic Dutch rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), mountain cottontail (*Sylvilagus nuttalli*), and whitetail jackrabbit (*Lepus townsendi*) as a function of posture. *Behavioral Biology*, vol. 24 (1), ss. 88–96
- Zucca, D., Redaelli, V., Marelli, S.P., Bonazza, V., Heinzl, E., Verga, M. & Luzi, F. (2012). Effect of handling in pre-weaning rabbits. *World Rabbit Science*, vol. 20 (2), ss. 97–101
- Öhrman, H. (2017-06-30). *Kan tämjning och träning förebygga att kaniner blir stressade och svårhanterade?* [Grundnivå, G2E]. Tillgänglig: <https://stud.epsilon.slu.se/10362/> [2020-11-12]

# Populärvetenskaplig sammanfattning

## Bakgrund

Kaninen är EU:s tredje vanligaste däggdjur i medicinsk forskning. Försöken innebär ofta nära kontakt med människor, men i dagsläget finns det inga riktlinjer för hur kaninerna ska förberedas och vänjas vid människor. Eftersom kaniner är bytesdjur så kan kontakten med människor under forskningsprojekten bli ett väldigt stressfullt moment i kaninens vardag. Stress påverkar inte bara djurens välfärd, utan också forskningens resultat eftersom stresspåslag kan påverka exempelvis blodvärdet och läkemedelssvar.

På Karolinska Institutet har ett träningsprogram utvecklats i syfte att vänja försökskaniner vid människor. Denna studie ska dokumentera och utvärdera programmets effekter med ett vetenskapligt förhållningssätt. Målet är att i längden kunna utveckla en standardiserad metod för hantering av kaniner i förberedelse för medicinsk forskning.

## *Teori och metod*

Det har gått att bevisa att kaninungar som hanteras av en människa före avvänjning är mindre rädda för människor. Studier tyder på att hanteringen huvudsakligen är effektiv ifall den sker i nära anslutning till di under deras första levnadsvecka. Det har även kunnat räcka att bara hålla handen nära ungarna, vilket tyder på att människans lukt har haft en stor inverkan. Det finns få studier på vuxna kaniner, men resultaten har pekat på att regelbunden hantering leder till mindre rädsla för människor.

Hanteringen kan involvera att smeka, lyfta och belöna kaninen. Det finns inga vetenskapliga studier som fastställt vilken hanteringsmetod som är lämpligast. Försökskaniner brukar lyftas genom grepp om nackskinnets med samtida stöd under bakkdelen. En enkätstudie visade dock att denna metod var den minst populära bland kaninhållare, bland annat med motiveringen att den ansågs olämplig för arten.

Denna studie utvärderade vilken inverkan Karolinska Institutets träningsprogram hade på sex kaniners uppvisade rädsla gentemot människor. Detta utfördes bland annat genom att registrera hur snabbt och hur ofta kaninerna tog kontakt med en människas hand under ett så kallat "human approach test". Andningsfrekvens togs också, eftersom den kan öka under stress. Under testet noterades även kaninens läge i buren eftersom en rädd kanin brukar kunna vistas mer under sitthyllan eller i den bakre delen av buren för att undvika människan.



Kaninernas beteende analyserades också genom att poängsätta olika tecken på rädsla, där lägre poäng kännetecknade räddare kaniner. En rädd kanin kan ha exempelvis uppspärrade ögon, upprätta öron, en spänd kroppshållning och stela utsträckta ben. De kan utöva flyktbeteenden och varnande stampningar.

## Resultat och diskussion

Träningsprogrammet utfördes över 12 dagar. De första dagarna efter ankomst till lokalerna gavs kaninerna tid att vänja sig vid miljön. Under denna tid hade kaninerna ingen fysisk kontakt med människor, men ett par gånger dagligen gick personal in i rummet och pratade lugnt med djuren under några minuters tid. Först från och med dag 3 kunde socialiseringen påbörjas, genom att kaninen smektes över kroppen ett par gånger dagligen.

Bortsett från den nödvändiga flytten från buren dag 1, så lyftes kaninerna inte ur buren förrän de skulle vägas efter att socialiseringen hade påbörjats. De lyftes då ur buren genom grepp kring nackskinnet och stöd under bakdelen för att placeras i en plastlåda på vågen. De sista dagarna vandes kaninerna vid medicingiva via munnen i samband med vägningen. Då togs ett grepp kring nackskinnet och kaninens kropp höjdes så att frambenen kunde stöttas mot plastlådans kortsida. Vatten sprutades in i mungipan via en spruta utan nål. Kaninen klappades både före och efter lyft, samt under den simulerade medicingivan.

Beteendeanalysen bevisade att kaninerna blev lugnare i slutet av studien. Kaninerna vistades huvudsakligen i den bakre delen av buren under sitthyllan i människans närvaro i början av studien, medan de senare rörde sig mer i burens främre halva, närmre människans hand. Det gick också att se att oftare tog kontakt med människan. Positiva effekter på kaninernas beteende sågs även direkt efter socialisering i början av studien.

Statistisk analys visade ingen påverkan på andningsfrekvens under studien. Det är möjligt att det beror på fel i de manuella mätningarna eller att andningsfrekvens inte är ett lämpligt mått på stress för kaniner. Eftersom resultatet från de övriga testerna var tillräckligt tydliga så kunde slutsatsen ändå dras att kaninerna hade blivit mindre rädda för människor efter träningsprogrammets fullföljande.

Studien innefattade bara ett fåtal kaniner, sex stycken, vilket gjorde att få resultat kunde bekräftas genom statistisk analys. Studien saknade också kontrollgrupp och det går därför inte att utesluta att resultatet beror på andra faktorer än hanteringen. Det är osäkert hur inverkan av exempelvis lukt, ljud, belöning och kaninernas bakgrund påverkar hanteringsresultat. Mer forskning krävs, men denna studie utgör ett lovande första steg i utvecklingen av en standardiserad, effektiv metod för socialisering och träning av kaniner i medicinsk forskning.